

Untersuchungen über den Antagonismus Aneurin-Acetylcholin am Froschherzen

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

Vorgelegt von

Samuel Läser

von Gontenschwil (Aargau)

Bern 1948

Untersuchungen über den Antagonismus Aneurin-Acetylcholin am Froschherzen

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

Vorgelegt von

Samuel Läser

von Gontenschwil (Aargau)

Bern 1948

Die Arbeit wurde ausgeführt auf Anregung und unter Leitung
von Herrn Professor Dr. Rolf Meier

Von der Medizinischen Fakultät genehmigt auf Antrag
von Herrn Prof. Dr. R. Meier am 20. Juni 1947



Sonderdruck aus:
Internationale Zeitschrift für Vitaminforschung, Band XX, Heft 1/3 1948

Alle Rechte vorbehalten
Copyright by Verlag Hans Huber, Bern 1948
In der Schweiz gedruckt — Imprimé en Suisse — Printed in Switzerland
Druck: Alfred Schmid & Cie., Bern

Untersuchungen über den Antagonismus Aneurin-Acetylcholin am Froschherzen

Von Samuel Läser

Die pharmakologische Charakterisierung der antagonistischen Beeinflussung der Acetylcholinwirkung durch Aneurin an isolierten Organen verschiedener Tierarten hat durch die Aufstellung des Begriffes eines zweiten Vagusstoffes durch von Muralt¹ besonderes Interesse gewonnen.

Den Ausgangspunkt seiner Untersuchungen bildeten die Ergebnisse französischer Autoren bei Reizversuchen an durchschnittlichen Nerven.

Binet und Minz² wiesen erstmals nach, daß bei der elektrischen Reizung des durchschnittenen Vagus eines Hundes in die Badesflüssigkeit des Nerven ein Stoff abgegeben wird, der die Rückenmuskulatur des eserinierten Blutes gegenüber der Acetylcholinwirkung sensibilisiert. Minz und Agid³ zeigten, daß die Wirkungen dieses Stoffes auch durch Aneurin reproduziert werden können. In der Verfolgung dieser Feststellung untersuchte Minz⁴ mit Hilfe eines auf Aneurin empfindlichen Flagellatenwachstumstestes den Aneuringehalt einer Badeslösung, in welche die frische Schnittfläche eines Rindernerven eintauchte. Die Badesflüssigkeit, in welche ein elektrisch gereizter Nerv eintauchte, wies gegenüber derjenigen eines ungereizten Nerven einen deutlich vermehrten Aneuringehalt auf. Diese Untersuchungen wurden von Minz sowie von v. Muralt und Mitarbeitern⁵ erweitert; sie entwickelten die Auffassung, daß Aneurin für die synaptische Reizübertragung sowie für die Reizleitung im Nerven eine wichtige Rolle spiele. Untersuchungen über die Aneurinwirkung am Herzen selber zeigten, daß Aneurin bis zu einer Konzentration von 1:1000 keine Eigenwirkung besitzt (Hecht und Weese, Kaiser, Erspamer⁶). Andersartige Angaben scheinen darauf zu beruhen, daß die Autoren der Säurewirkung des Aneurinhydrochlorid nicht die gebührende Achtung geschenkt haben, worauf besonders Kaiser hinwies.

Agid und Balkanyi⁷ stellten erstmals die antagonistische Wirkung des Aneurin gegenüber Acetylcholin am Froschherzen fest. Schwache Dosen Aneurin (10^{-7} bis 10^{-5}) sind ohne Einfluß auf die Acetylcholinwirkung, während stärkere Dosen (von 10^{-5} an) sie verringern oder sogar aufheben. In gewissen Konzentrationen schrieben sie allerdings dem Aneurin selber noch eine ne-

gativ inotrope Wirkung zu. In weitem Versuchen⁸ benützten sie das Froschherzpräparat mit erhaltenem Vagus. Die Reizflüssigkeit aus mehreren Vagusreizperioden wurde auf ein Blutegelpräparat übertragen. War die Reizflüssigkeit eseriniert, dann kontrahierte sich der Muskel entsprechend der Wirkung von 10^{-9} bis 10^{-8} Acetylcholin. War die Reizflüssigkeit nicht eseriniert, kontrahierte sich der Muskel nicht, hingegen war die Wirkung von zugesetztem Acetylcholin gegenüber vorherigen Testierungen deutlich verstärkt. Diese Wirkung entspricht derjenigen der Badeflüssigkeit eines durchschnittenen, gereizten Nerven und von Aneurin.

Die von Minz und Agid³ erstmals gemachte Angabe, daß Aneurin den eserinierten Blutegelmuskel gegenüber Acetylcholin sensibilisiere, wurde von Brücke und Sarkander⁹ sowie Byer und Harpuder¹⁰ bestätigt. Sie fanden aber übereinstimmend, daß die Gegenwart von Eserin unbedingt notwendig ist; durch Aneurinzusatz in höhern Konzentrationen allein wird die Acetylcholinwirkung abgeschwächt und verhindert.

Kaiser⁶ bestätigte, daß Aneurin in Konzentrationen von 10^{-4} bis 10^{-3} die negative ino- und chronotrope Acetylcholinwirkung am Froschherzen abschwächen und aufheben kann. Er beschrieb auch, daß Aneurin diesen Einfluß nur auszuüben vermag, wenn es gleichzeitig mit Acetylcholin einwirkt. Auch nach einstündigem Schlagen eines Herzens in einer aneurinhaltigen Ringlösung ist schon nach dreiminütigem Auswaschen jeder modifizierende Einfluß auf die Acetylcholinwirkung verschwunden. Das Aneurin scheint keine Bindung mit dem Herzmuskelgewebe einzugehen.

Erspamer¹¹, der sich mit der Aneurinwirkung auf verschiedene isolierte Organe beschäftigte, kam in bezug auf das Froschherz zu gleichen Resultaten. Er wies außerdem nach, daß Aneurin auch die Wirkung von Arecolin und Pilocarpin hemmt, nicht aber diejenige von Histamin.

Einer Mitteilung von Gross¹² kann man entnehmen, daß auch Cholinchlorid und das von der Cholinesterase nicht abbaubare Doryl von Aneurin gehemmt wird.

Im Gegensatz zu diesen Angaben fanden Martin und Lisak¹³, daß mit Aneurin 1:100 000 versetzte Tyrodelösung auf die nach Langendorff präparierten Herzen von Meerschweinchen und Ratten eine depressive Wirkung ausübt und daß auch nach längerem Durchströmen der Herzen mit dieser Lösung die Acetylcholinempfindlichkeit nicht verändert wird.

Nach Nitzescu und Theodoru¹⁴ soll am Krötenherz Aneurin 1:50 000 bis 1:100 000 die Wirkung von Acetylcholin und eines von einem Spenderherzen gelieferten Vagusstoffes verstärken.

Scheinfinkel¹⁵ verglich den Mechanismus der Acetylcho-

linhemmung durch Aneurin mit derjenigen von Atropin und kam zur Folgerung, daß es sich um zwei grundsätzlich verschiedene Mechanismen handle. Erstens erweist sich der Konzentrationsbereich von Acetylcholin, dessen Herzwirkung durch Aneurin beseitigt wird, als engbegrenzt, und zweitens ist die Aneurinhemmung keine so anhaltende wie die des Atropins, d.h. nur bei gleichzeitiger Gegenwart beider Stoffe in der Kanüle vorhanden und leicht auswaschbar. Bei wiederholtem Auswaschen des Herzens mit einer Aneurin-Acetylcholin-Ringerlösung konstanter Zusammensetzung soll die Hubhöhe des Herzens dauernd abnehmen, bis sie schließlich fast so klein wird wie bei Einwirkenlassen von Acetylcholin gleicher Konzentration allein. Der erneute Zusatz der von der ersten Spülung her aufbewahrten «Herz-Aneurin-Acetylcholinlösung» ergibt wieder nahezu völlige Erholung des Herzens, trotzdem die Acetylcholinzersetzung durch Eserinzusatz gehemmt war. Er folgert daraus, daß die Aneurinhemmung nicht auf einer Beeinflussung der Cholinesterase beruhe, daß aber zur Auslösung des Hemmeffektes noch eine durch mehrere Spülungen leicht auswaschbare Gewebskomponente nötig sei.

1944 gaben Wyss und v. Muralt¹⁶ Versuche am Froschherz-Vaguspräparat bekannt, in welchen mit Hilfe einer Thiochrommethode nach einer fünfminütigen Vagusreizung in der Froschherzkanüle eine Ansammlung von $2-3 \cdot 10^{-9}$ g/cm³ Aneurin festgestellt wurde. Mit der Mycophycesmethode nach Schopfer waren die Werte nur wenig kleiner ($1,5 \cdot 10^{-9}$ g/cm³).

Diese Aneurinfreisetzung wird auch bei Vagusreizung von der Medulla oblongata aus erhalten, während Sympathikusreizung vom Grenzstrang aus kein Aneurin freisetzt. Damit ist die schon aus den Versuchen von Agid und Balkanyi zu vermutende Aneurinfreisetzung genau präzisiert. Diese geringe Menge einer von den Vagusnervenendigungen freigesetzten Aneurinverbindung unbekannter Natur zeigte, auf ein Empfängerherz übertragen, ebenfalls wie das käufliche Aneurinhydrochlorid, eine antagonistische Wirkung gegenüber Acetylcholin, aber in einer 1000- bis 10 000fach geringeren Konzentration. Sie bezeichneten deshalb diese bei Vagusreizung freiwerdende, durch UV-Licht zerstörbare, geringe Aneurinmenge als zweiten Vagusstoff. Danach wäre Aneurin nicht nur eine Aktionssubstanz des Nerven, sondern auch eine Mediatorsubstanz. A. v. Muralt entwickelte zur Erklärung dieses Befundes eine Theorie der humoralen Antagonisten. Die von der Stoffwechsellage abhängige abgestufte Freisetzung des zweiten Vagusstoffes soll diejenige des ersten Vagusstoffes (Loewi) in ergotropem Sinne modifizieren und damit die früher gemachten Angaben über den Verlauf sympathischer Fasern im Vagus in anderer Weise erklären. Die Frage, ob es sich bei der antagonistischen

Wirkung des Aneurins um eine aneurinunspezifische Wirkung handle, wurde von Raaflaub¹⁷ an Hand einiger künstlicher Aneurinderivate untersucht. Er fand, daß eine Reihe von Aneurinderivaten wirksam ist. Thiazolderivate mit fünfwertigem Stickstoff sind wirksam, Thiazolderivaten mit dreiwertigem Stickstoff fehlt eine antagonistische Wirksamkeit, ebenso ist ein Pyrimidinderivat nur sehr schwach wirksam.

Eigene Versuche

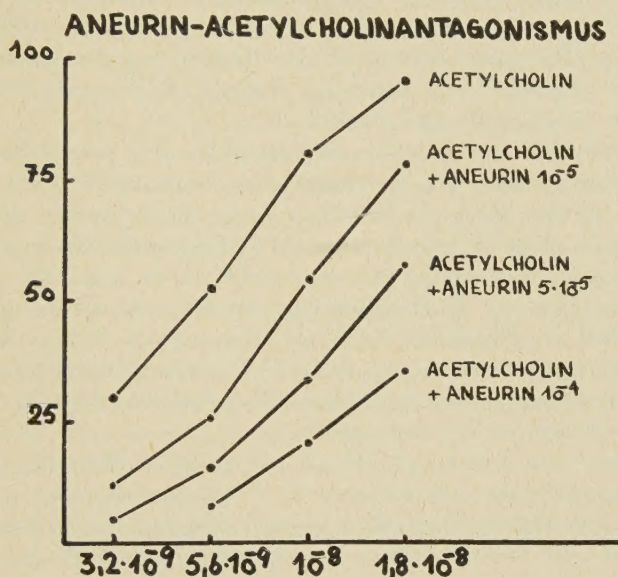
Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem Aneurin-Acetylcholin- (ACH) Antagonismus am isolierten Froschherzen. Neben der Untersuchung über die antagonistische Wirksamkeit von Teilstücken des Aneurins sowie seine Wirksamkeit gegenüber andern Parasympathikomimetika wird versucht, seine Hemmwirkung quantitativ zu erfassen und in Vergleich zu setzen mit der Wirkung von ACH-Antagonisten aus der Gruppe des Atropins und deren Spaltprodukte.

Methodik: Die Versuche wurden am isolierten Froschherzen an der Symeskanüle ausgeführt. Verwendet wurden einheimische *Ranae temporariae* zu verschiedenen Jahreszeiten. Die von Sauerstoff durchperlte Ringerlösung wurde in einer Menge von 1 cm³ in die Kanüle gegeben, die geprüften Stoffe in Ringerlösung aufgelöst und je nach der Reaktion mit n/10 NaOH oder n/10 HCl neutralisiert (kolorimetrische Prüfung). Die zugesetzten Flüssigkeitsmengen überschritten die ursprüngl. Flüssigkeitsmenge nicht um mehr als 0,1—0,2 cm³, was ohne Einfluß auf die Hubhöhe blieb. Die jeweilige ACH-Empfindlichkeit des Froschherzens wurde solange geprüft, bis sich gleichmäßige Werte einstellten, da sich anfangs oft noch eine Steigerung der ACH-Empfindlichkeit zeigte. Die ACH-Wirkung wurde stets vor und nach der Zugabe einer hemmenden Substanz testiert. Die Lösungen von ACH (Acetylcholinchlorid-Roche) und Aneurin (Aneurinhydrochlorid-Roche) wurden stets frisch hergestellt. Die Konzentrationsangaben beziehen sich auf die Menge der zur Kanülenflüssigkeit zugesetzten Substanzen (g/cm³).

1. Quantitative Auswertung der antagonistischen Reaktion ACH-Aneurin, Wirkung vielfach wiederholter Dosen von ACH-Aneurin

Die von Agid und Balkanyi, Kaiser und Erspamer angegebene Hemmwirkung des Aneurins auf die negativ ino- und chronotrope ACH-Wirkung läßt sich in allen Versuchen wiederholen. Die Hemmwirkung beginnt bei einer Konzentration von 10⁻⁵ Aneurin, bei 10⁻⁴ ist sie stets deutlich ausgeprägt. In einem Bereich von 10⁻⁹ bis 10⁻⁷ ACH ist die antagonistische Wirkung einer bestimmten Aneurindosis unabhängig vom Ausmaß der ACH-Wirkung. Sie beträgt zum Beispiel für 10⁻⁴ Aneurin je nach Versuch 40—60 %. Diese Unabhängigkeit von der Größe der jeweiligen ACH-Dosis läßt sich deutlich zeigen bei der Aufzeichnung einer Dosis-Wirkungskurve (Kurve 1). Die eingezeichneten Werte sind Durchschnittswerte aus einer Reihe von Versuchen. ACH-Dosen, die eine Hubhöhenabnahme von 30 % bewirken, werden von einer bestimmten Aneurindosis gleich stark gehemmt wie diejenige

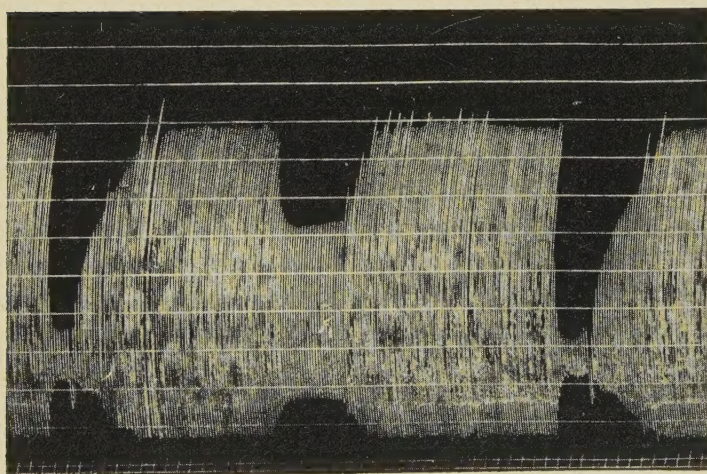
ACH-Menge, die erstmals einen diastolischen Herzstillstand bewirkt. Wird allerdings die ACH-Dosis weiter gesteigert auf 10^{-6} bis 10^{-5} , so vermögen auch Aneurindosen von 10^{-3} einen Stillstand



ORDINATE: % HEMMUNG DER HUBHÖHE DES FROSCH-
HERZENS (DURCHSCHNITTSWERTE)

ABSZISSE: LOG. KONZ. ACETYLCHOLIN

KURVE 1



10^{-8} ACH ++++++ $5 \cdot 10^{-5}$ B₁ 10^{-8} ACH ++++++ 10^{-8} ACH ++++++

+ bedeutet Auswaschen.

nicht zu verhindern. Für die Aneurinwirkung ist es gleichgültig, ob es vor, gleichzeitig mit oder nach ACH zugesetzt wird, ferner ob man es vorher mit ACH mischt und die Mischung bis zu 15 Minuten stehen läßt oder die Lösungen aus getrennten Pipetten zusetzt. Mehrmaliges Spülen läßt die Aneurinwirkung vollkommen beseitigen. Bei der Aufstellung der Kurven wurde Aneurin stets vor ACH zugegeben, da sonst bei höhern ACH-Dosen keine Mischung in der Kanüle mehr stattfindet.

Die Schwankungen in der Wirksamkeit des Aneurins hängen unter anderm davon ab, wie lange die verwendeten Frösche eingekellert waren. Nach 2- bis 3monatiger Einkellerung zeigt sich parallel mit einer Abnahme der ACH-Empfindlichkeit eine Zunahme der Hemmwirkung des Aneurins. Dies kann die Auswirkung einer Vitamin B₁-Hypovitaminose sein. In dieser Richtung deuten auch die Angaben von Erspamer sowie Nitzescu und Theodoru, die nachwiesen, daß bei Vitamin B₁-avitaminotischen Tauben die letale Dosis ACH anderthalbfach bis doppelt so groß ist als diejenige bei Normaltieren.

Zu der von Scheinfinkel geforderten Mitwirkung einer Gewebekomponente ergeben unsere Versuche folgendes:

Nach 15maligem Wiederholen einer Zugabe von Aneurin und ACH bleibt die Hemmwirkung des Aneurins innerhalb der Fehlergrenze gleich. Auch mehrfaches, aufeinanderfolgendes Einwirken lassen von Aneurin und ACH für je 5 Minuten führt zu keiner Abnahme der Aneurinhemmwirkung, ebenso vielfaches Spülen des Herzens mit Ringerlösung während 1—2 Stunden. Bei der letztgenannten Versuchsanordnung nimmt zwar die Hubhöhe des Herzens ab, nicht aber die prozentuale Beeinflussung der ACH-Wirkung durch Aneurin. Im Gegensatz zu der Versuchsanordnung von Scheinfinkel lassen wir die Herzen durch Spülen mit Ringerlösung zwischen den einzelnen Gaben von ACH-Aneurin zur Norm erholen, aber auch in seiner Anordnung (mehrfaches Spülen allein mit ACH-Aneurin-Ringerlösung) erhalten wir kein Nachlassen der ACH-blockierenden Wirkung des Aneurins. Unter unsern Versuchsbedingungen glauben wir deshalb das Mitwirken einer Gewebekomponente beim Zustandekommen der Aneurinwirkung ablehnen zu können.

2. Antagonistische Beeinflussung anderer Parasympathikomimetika durch Aneurin

Die Untersuchung der Aneurinwirkung auf andere Parasympathikomimetika läßt eventuell Schlüsse darauf ziehen, ob die antagonistische Wirkung auf einer Blockierung des Effektororganes oder eher auf dem Eingreifen des Aneurins in enzymatische Vorgänge beruht.

Zu diesen Versuchen wurden verwendet: Cholinchlorid, Pilocarpin hydrochloricum, Arecolin hydrochloricum, Cesol (Pyridin-3-carbonsäuremethylester-methochlorid) und ein Benzylaminderivat. Es wurde stets die gleiche Menge Aneurin zugegeben (10^{-4}) und die betreffenden Parasympathikomimetika in solchen Dosen, welche bei alleiniger Einwirkung etwa die gleiche Hubhöhenabnahme bewirken (Pilocarpin, Arecolin 10^{-7} bis 10^{-6} , Cholin 10^{-5} bis 10^{-4}). Die erwähnten Stoffe werden alle außer dem Benzylaminderivat von Aneurin gehemmt. Bei der verwendeten Aneurindosis von 10^{-4} wird die Arecolin- und Pilocarpinwirkung um 25—40 % gehemmt, diejenige des Cholin um 15—25 %. Im Vergleich dazu sei nochmals erwähnt, daß die ACH-Wirkung durch Aneurin 10^{-4} um 40—60 % gehemmt wird. Die antagonistische Wirkung des Aneurins ist also gegenüber ACH am ausgeprägtesten, sie beschränkt sich aber nicht nur auf Cholinderivate, sondern erfaßt auch Parasympathikomimetika von anderer chemischer Struktur. Das durch Aneurin nicht gehemmte Benzylaminderivat wird auch durch Atropin nicht beeinflußt.

Diese Versuche stehen also in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Erspamer und Gross. Aneurin scheint deshalb auf das Effektororgan blockierend einzuwirken ohne direktes Eingreifen in enzymatische Vorgänge.

3. Spezifität der antagonistischen Wirkung des Aneurins

Bereits Raaflaub zeigte, daß verschiedene Derivate des Aneurins antagonistisch wirksam sind. Es fehlen aber quantitative Angaben über das Verhältnis der Wirksamkeit dieser Derivate gegenüber Aneurin. Wir untersuchten deshalb einige Pyrimidin- und Thiazolderivate. Diese Untersuchung sollte auch abklären, ob die Hemmwirkung an eines der beiden Ringsysteme gebunden ist. Die wirksamen Verbindungen wurden in molaren Verhältnissen mit Aneurin verglichen (m/1000, m/2000, m/10 000).

Die zwei folgenden Thiazolderivate erwiesen sich dabei als ebenso wirksam wie Aneurin:

3-Methylthiazolon-(2)-imidjodhydrat (A)

2-Aminothiazolon-hydrochlorid (D)

Ihre Hemmwirkung läßt sich durch Auswaschen leicht beseitigen. Mit den Thiazolderivaten

2-Aminothiazol-hydrochlorid (C)

2-Allylaminothiazol-hydrochlorid (E)

kann ebenfalls eine Hemmwirkung erzielt werden, die aber deutlich schwächer ist als diejenige des Aneurins. Im Gegensatz zu den vorher erwähnten Thiazolderivaten bleibt ihre Wirkung etwas haften, d. h. zur Erreichung der ursprünglichen ACH-Wirkung muß länger gespült werden.

Andere Thiazolderivate sind gegenüber der ACH-Wirkung völlig unwirksam; so z. B.

Thiazol-2-carbonsäureäthylester (F)

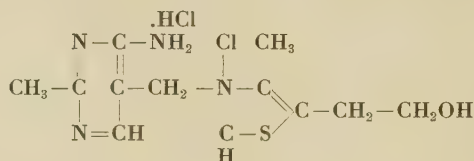
Thiazol-2-carbonsäureamid (G)

Thiazol-4-carbonsäureamid (H)

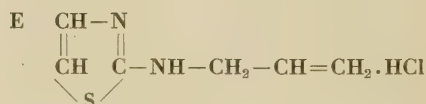
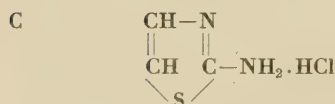
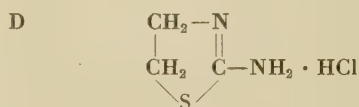
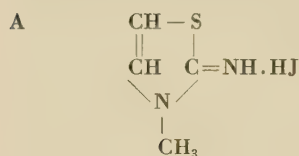
Thiazol-4-carbonsäure (J)

Formeln der verwendeten Thiazol- und Pyrimidinderivate

Aneurin

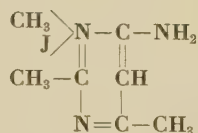
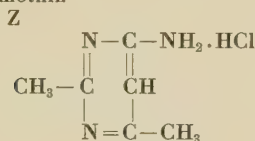


Wirksame Thiazolderivate

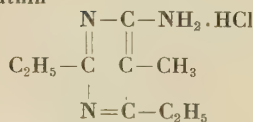


Wirksame Pyrimidinderivate

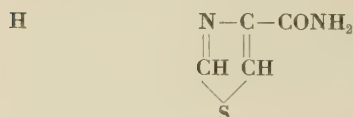
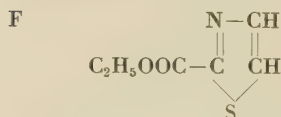
Kyanmethin



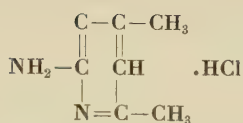
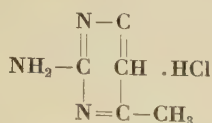
Kyanäthin



Unwirksame Thiazolderivate



Unwirksame Pyrimidinderivate



Alle wirksamen Thiazolderivate weisen also eine Aminogruppe in 2-Stellung auf. In chemischer Hinsicht weisen die beiden erstgenannten, gleich stark wie Aneurin wirksamen Thiazolderivate A und D die stärksten basischen Eigenschaften auf. Dieser Befund steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Raaflaub, der fand, daß nur die stärker basischen Thiazolderivate wirksam sind. Eine 5-Oxyäthylgruppe ist für die Erzielung einer antagonistischen Wirkung nicht notwendig.

Auch von den geprüften Pyrimidinderivaten erweisen sich zwei als wirksam, nämlich

Kyanmethin (als Hydrochlorid und Jodmethyl) (Z)

= 6-Amino-2,4-dimethylpyrimidin

Kyanäthin-hydrochlorid

= 6-Amino-5-methyl-2,4-diäthylpyrimidin

Mit Aneurin verglichen, ist die Wirksamkeit schwächer, aber sie liegt im gleichen Potenzbereich.

2-Amino-4-methylpyrimidin und 2-Amino-4,6-dimethylpyrimidin erweisen sich als völlig wirkungslos, ebenso Acetamidin als Baustein des Pyrimidinringes.

Beim Vergleich der chemischen Struktur zeigt sich, daß die Pyrimidinderivate mit der Aminogruppe zwischen den beiden Stickstoffatomen (2-Stellung) wirkungslos sind, während die Pyrimidinderivate mit einer Aminogruppe in der gleichen Stellung wie im Aneurin wirksam sind.

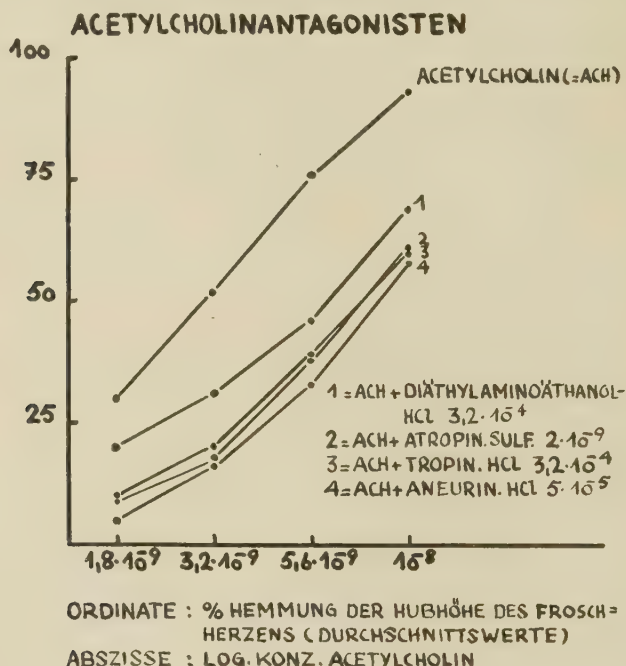
Sulfanilamid (in Dosen von 10^{-4}) erwies sich als wirkungslos. Auch gegenüber Arecolin und Pilocarpin zeigen das Thiazolderivat D und Kyanmethinhydrochlorid eine ausgeprägte Hemmwirkung. Wie auch gegenüber ACH ist diejenige des Pyrimidinderivates geringer als die des Thiazolderivates.

Zusammenfassend ergibt sich also, daß sowohl Thiazol- als auch Pyrimidinderivate, die keinen Vitamincharakter mehr zeigen, gegenüber ACH eine gleich starke antagonistische Wirkung zeigen wie Aneurin. Es läßt sich deshalb nicht von einer aneurinspezifischen antagonistischen Wirksamkeit sprechen.

4. Vergleich der ACH-antagonistischen Wirkung von Aneurin und Atropin

Im Gegensatz zu dem leicht auswaschbaren Aneurin bleibt Atropin ziemlich fest am Herzmuskelgewebe haften. Bei Verwen-

den von Atropin sulf.-dosen von 10^{-9} bis 10^{-7} läßt sich durch 10 bis 20 Minuten Abwarten und häufiges Spülen die ursprüngliche ACH-Wirkung wieder erreichen. Es erschien deshalb angepaßt, kurvenmäßig die Wirkung einer nur partiell hemmenden Atropindosis auf steigende ACH-Dosen festzustellen und mit der Aneurinhemmkurve zu vergleichen (Kurve 2). Auch hier zeigt sich, daß die Kurve der partiell hemmenden Atropindosis + ACH pa-



KURVE 2

rallel zu der Kurve der ACH-Werte allein verläuft und daß der Abstand der beiden Kurven nur von der Menge Atropin abhängt.

Der Unterschied beruht also bei der Atropin- und Aneurinhemmung vor allem auf dem deutlichen Konzentrationsunterschied der zur Hemmung benötigten Dosen, ferner auf der verschiedenen raschen Auswaschzeit.

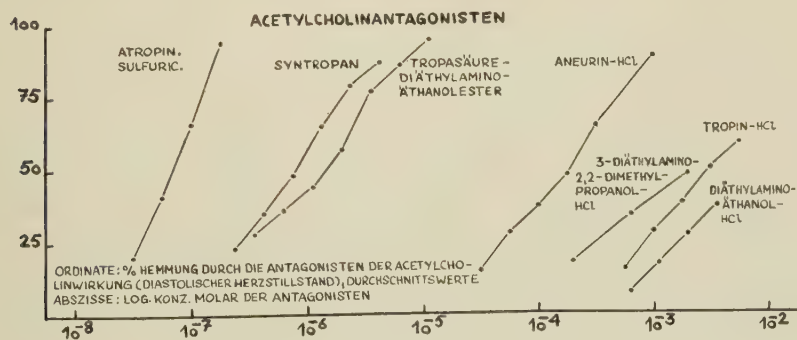
Daß die Hemmwirkung einer konstanten Dosis eines ACH-Antagonisten bei verschiedenen großen ACH-Dosen gleich bleibt, läßt sich am einfachsten mit der von Clark, Gaddum et al.¹⁸ entwickelten Rezeptoretheorie deuten. Sie stellten mathematische Beziehungen über die quantitativen Verhältnisse des ACH-Atropinantagonismus an verschiedenen Organen auf. ACH und der Antagonist sollen nach dem Massenwirkungsgesetz um die gleichen Rezeptoren auf der Zelloberfläche konkurrieren und sich ver-

drängen. Daß allerdings die lange Auswaschzeit des Atropins sich durch hohe ACH-Dosen nicht verkürzen läßt, steht in einem gewissen Widerspruch zu dieser Theorie und weist auf die Komplexheit auch einfacher Antagonismen hin. Zusatz von Aneurin und Atropin zugleich in partiell wirksamen Dosen ergibt, daß sich die Aneurin- und Atropin-Wirkung addieren läßt, es tritt aber keinerlei überadditiver Effekt auf.

5. Vergleich der Wirksamkeit des Aneurins mit andern Aminoalkoholen

Der Vergleich der chemischen Struktur von Atropin und Aneurin zeigt, daß Atropin der Tropasäureester des heterozyklischen Alkohols Tropin ist, während Aneurin ein aus zwei heterozyklischen Ringsystemen zusammengesetzter Alkohol ist. Ein Vergleich des Aneurins mit der Wirksamkeit des Tropins und andern Aminoalkoholen ist daher angezeigt. Es zeigt sich, daß Tropin hydrochloricum erst von 10^{-4} an gegenüber ACH antagonistisch wirkt. Wie aus Kurve 2 zu entnehmen ist, zeigt $3,2 \cdot 10^{-4}$ Tropin-HCl die gleiche Hemmwirkung wie $5 \cdot 10^{-5}$ Aneurin, d.h. auf molare Werte umgerechnet $1,8 \cdot 10^{-3}$ Tropin-HCl = $1,5 \cdot 10^{-4}$ Aneurin-HCl. Tropin wirkt also 10mal schwächer als Aneurin. In Dosen von $6 \cdot 10^{-4}$ an aufwärts hat Tropin-HCl selber eine negativ inotrope Wirkung.

In einer weitem Versuchsreihe wurde mit einer konstanten ACH-Dosis gearbeitet, nämlich derjenigen Menge, die erstmals einen diastolischen Herzstillstand erzeugt; dieser Wert schwankt zwischen 10^{-8} bis 10^{-7} je nach Jahreszeit. Bei dieser Anordnung können steigende Mengen der ACH-Antagonisten verwendet werden (Kurve 3).



KURVE 3

Der Vergleich der Kurven zeigt, daß die verschiedenen Aminoalkohole lineare Kurven von nahezu gleichem Anstieg ergeben,

während die zum Antagonismus benötigten Mengen schwanken und von der chemischen Struktur abhängig zu sein scheinen. Für Diäthylaminoäthanol, Diäthylaminodimethylpropanol und Tropin können wegen ihrer eigenen negativ inotropen Wirkung in höhern Dosen keine Hemmwerte von mehr als 50% erhalten werden. Auch bei dieser Anordnung zeigt sich Aneurin etwa 12mal stärker wirksam als Tropin.

6. Zusammenhang der Wirksamkeit der Aminoalkohole mit der Veresterung

Bei dieser Untersuchungsreihe prüften wir auch die verschiedene Wirksamkeitssteigerung der 3 genannten Aminoalkohole bei der Veresterung mit Tropasäure (Kurve 3). Tropasäure allein ist bis zu einer Konzentration von $3,2 \cdot 10^{-3}$ gegenüber ACH wirkungslos. Oberhalb dieses Wertes wirkt sie selber negativ inotrop. Dies stimmt mit den Angaben von Macht¹⁹ überein, wonach Na-tropat die Wirkung von ACH auf Uterus und Darm nicht aufhebt.

Atropin zeigt neben seiner höhern Wirksamkeit am Herzen einen viel steilern Kurvenanstieg, während der Tropasäureester des Diäthylaminoäthans (Trasentin-Ciba) und der Tropasäureester des Diäthylaminodimethylpropanols (Syntropan-Roche) mit ihrem flachern Anstieg eher den Kurven der Aminoalkohole gleichen, mit denen sie auch die leichte Auswaschbarkeit gemeinsam haben. Aus dem kurvenmäßigen Verlauf der Wirksamkeit der Aminoalkohole läßt sich nicht auf die Wirksamkeitssteigerung durch die Veresterung mit Tropasäure schließen.

7. Gleichartigkeit der antagonistischen Reaktion des Aneurins gegenüber ACH und Vagusreiz

Bei den Vagusreizversuchen stellten wir uns folgende Fragen:

a) Ist die Hemmwirkung des Aneurins hier schon in geringern Konzentrationen erreichbar als bei Zusatz von ACH-Chlorid? Nach Genuits²⁰ quantitativen Untersuchungen über die ACH-Freisetzung am Herzen muß man, um die gleiche Wirkung auf das Herz durch Zufügen von ACH wie bei einer Vagusreizung zu erhalten, eine 5fach größere ACH-Menge zusetzen als die bei der Vagusreizung freiwerdende. Es kann vermutet werden, daß die zur Hemmwirkung benötigten Aneurindosen deshalb kleiner sind.

b) Ist die Wirkung von zugesetztem ACH nach mehrfachen, längern Vagusreizen vom Zentrum her durch die Ansammlung einer Aneurinverbindung in der Kanüle gegenüber der testierenden ACH-Wirkung verändert?

Die Vagusreizversuche wurden nach der von F. Wyss beschriebenen Technik ausgeführt¹⁶: Froschherz in situ an der Ka-

nüle. Gereizt wurde mit Platinelektroden, die im hintern Teil der Rautengrube eingesteckt wurden, mit einem durch ein Metronom unterbrochenen Gleichstrom (Frequenz 20—60, Spannung 2—4 Volt je nach Reizerfolg). Die Wirkung des Reizes wurde auf einem Kymographion festgehalten.

Die Versuche ergeben, daß sich die Hemmung des Vagusreizeffektes durch Aneurin nicht schon mit geringern Konzentrationen erzielen läßt als bei der Gabe von ACH-Chlorid. Häufig ist die hemmende Wirkung noch etwas geringer als auf eine ACH-Dosis, welche eine gleiche Hubhöhenabnahme auslöst. Der Vagusreizeffekt wird auch durch das Thiazolderivat D und das Pyrimidinderivat Kyanmethin gehemmt, wobei das letztere schwächer wirkt.

Eine vor und nach mehreren länger dauernden Vagusreizen zugesetzte ACH-Dosis löst den gleichen negativ inotropen Effekt aus.

Bei Reizung von der Medulla oblongata aus stellt sich häufig nach einer Anzahl Reize mit negativ inotropem und chronotropem Erfolg bei weiterer Reizung nach einer kurzen negativ inotropen Vorphase eine positive inotrope Nachphase ein. Wird eine vorher testierte ACH-Dosis während dieses Reizeffektes gegeben, kommt es trotzdem zu einer prozentual gleichbleibenden Hubhöhenabnahme.

Zusammenfassung

1. Die antagonistische Wirkung des Aneurins gegenüber Acetylcholin am Froschherzen ist für Acetylcholindosen, die von der Schwellenwertdosis bis zu der erstmals einen diastolischen Stillstand hervorruhenden Dosis variieren, allein abhängig von der Aneurinmenge, nicht aber von der Acetylcholindosis. Höhere Dosen ACH (von 10^{-6} an) werden von Aneurin nicht mehr antagonistisch beeinflußt. Der Antagonismus ist am Froschherzen unabhängig von einer weitem Gewebskomponente.

2. Durch Atropin hemmbare andere Parasympathikomimetika werden ebenfalls durch Aneurin gehemmt.

3. Die antagonistische Wirkung ist als unspezifisch anzusprechen, da eine Reihe von Thiazol- und Pyrimidinderivaten, die keinen Vitamincharakter besitzen, eine gleich starke Hemmwirkung gegenüber ACH besitzen.

4. Die Hemmkurve einer nur partiell wirksamen Atropindosis zeigt einen kurvenmäßig gleichen Verlauf wie diejenige von Aneurin. Die Unterschiede beruhen auf einer verschieden starken Haftfähigkeit sowie der großen Differenz der wirksamen Konzentrationen.

5. Tropin und zwei aliphatische Aminoalkohole sind schwächer wirksam als Aneurin.

6. Aus dem kurvenmäßigen Verlauf der Wirksamkeit der Aminoalkohole läßt sich nicht auf die Wirksamkeitssteigerung durch die Veresterung mit Tropasäure schließen.

7. Für die Hemmung des Vagusreizes benötigt man gleich große Aneurinmengen wie die zur Aufhebung einer gleich stark wirkenden Acetylcholinmenge.

SUMMARY

Investigations into the antagonistic effect of aneurine and acetylcholine on the frog heart.

The quantity of aneurin influences the antagonism, but higher doses of acetylcholine (from 10^{-6} upward) are no longer affected by aneurine. Other parasympathomimetic substances inhibited by atropine are also inhibited by aneurine. This antagonism is not specific.

CONCLUSION

Recherches concernant l'antagonisme aneurine-acetylcholine dans leur action sur le cœur de grenouille.

La quantité d'aneurine est décisive dans cet antagonisme. Les doses d'acetylcholine plus élevées que 10^{-6} ne sont plus influencées par l'aneurine. D'autres substances parasympathomimétiques inhibées par l'atropine sont également inhibées par l'aneurine. D'autres substances thiazoliques sans action vitaminique ont la même action. Cet antagonisme n'est donc pas spécifique.

LITERATUR

1. Wyss, F. & v. Muralt, A., *Helv. Physiol. A.* 1944, 2, C61. — v. Muralt, A., *Experientia* 1945, 1, 136. — v. Muralt, A., *Die Signalübermittlung im Nerven*, Basel 1946. — 2. Binet, S. & Minz, B., *C. R. Soc. Biol. Paris* 1934, 117, 1029. — *Arch. int. de physiol.* 1936, 42, 281. — 3. Minz, B. & Agid, R., *C. R. de l'Acad. des sciences* 1937, 205, 576. — 4. Minz, B., *C. R. Soc. Biol. Paris* 1938, 127, 1251. — 5. Minz, B., *Presse méd.* 1938, 46, 406; *C. R. Soc. Biol. Paris* 1939, 131, 1156. — v. Muralt, A., *Naturwissenschaften* 1939, 17, 265. — *Pflügers Arch.* 1942, 245, 604. — 6. Hecht, G. & Weese, H., *Klin. Wschr.* 1937, 1, 414. — Kaiser, P., *Pflügers Arch.* 1939, 242, 504. — Erspamer, V., *Arch. int. Pharmacodyn.* 1939, 63, 261. — 7. Agid, R. & Balkanyi, J., *C. R. Soc. Biol. Paris* 1938, 127, 680. — 8. Agid, R. & Balkanyi, J., *C. R. Soc. Biol. Paris* 1938, 127, 683. — 9. Brücke, E. Th. & Sarkander, H., *Arch. exp. Path. und Pharm.* 1940, 195, 218. — 10. Byer, J. & Harpuder, K., *J. Pharmacol.* 1940, 70, 328. — 11. Erspamer, V., *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* 1939, 14, 655. — 12. Gross, F., *Experientia* 1946, 2, 191. — 13. Martin, J. & Lissak, K., *Arch. exp. Path. und Pharm.* 1941, 198, 667. — 14. Nitzescu, J. J. & Theodoru, C., *Bull. Acad. méd. Roum.* 1942, zit. n. *Rona*, 11, 19. — 15. Scheinfinkel, N., *Helv. Physiol. A.* 1943, 1, 149. — 16. Wyss, F. & v. Muralt, A., *Helv. Physiol. A.* 1944, 2, C61; 1945, C30. — 17. Raaflaub, H., *Diss. Bern* 1945. — 18. Clark, A. J., *J. of Physiol.* 1926, 61, 530 und 547. — 19. Macht, D., *Arch. int. Pharmacodyn.* 1923, 27, 175. — 20. Genuit, H., *Arch. exp. Path. und Pharm.* 1941, 198, 561.

